APPORTS DE LA LOUPE BINOCULAIRE A L'ETUDE DES INTERFACES SOL/RACINE ET SOL/CHAMPIGNON

CALLOT G.[1] et JAILLARD B.[1]

ABSTRACT

Soil root interface microstructures constitute an outstanding research that can define the nature of soil constituents directly in contact with the root system. To effect such an analysis however, it is necessary to use many techniques of observation among which, the stereo microscope appears to be the key-tool for an integrated tridimensional microstructural approach. It is an instrument that may be used in the field as well in laboratory and permits observation of fresh samples with undisturbed biological structures that are often very brittle.

To illustrate the value of such an approach the authors point out the existence of calcitized root cell walls and the presence of mycelial hyphae which are abundant in sandy soils (A_2 horizon of podzol).

MOTS-CLES :

Microstructure - Interface sol/racine/hyphe mycélien - Calcite - Podzol

INTRODUCTION

L'essor des techniques de micromorphologie du sol a fortement contribué au développement de la Science du Sol au cours des dernières décennies. Cet essor est lié à l'apparition des résines synthétiques qui ont permis la consolidation des échantillons et l'application des techniques pétrographiques à l'étude des microstructures du sol (FEDOROFF, 1968). De fait, la réalisation et l'observation d'une lame mince de sol diffèrent peu de celles d'une lame mince de roche. C'est d'ailleurs en s'inspirant de l'analyse pétrographique des roches que BREWER (1964) développa une méthode et une terminologie adaptée à la description des lames minces de sol. Par la suite, la microscopie optique fut complétée par la microscopie électronique : MET, MEB, microsonde (BOCQUIER et NALOVIC, 1972).

Aujourd'hui, nombre de chercheurs, sans pour autant être spécialistes en microscopie, appuient leurs travaux sur ces techniques. Les recherches développées à partir de ces dernières concernent des disciplines aussi différentes que la minéralogie (description, identification, altération), la physique du sol (agrégation, porosité) (JONGERIUS, 1972 ; BULLOCK et MURPHY, 1980), l'hydrodynamique (BOUMA et al. 1977), aussi bien que la biochimie et la biologie.

Mais, curieusement, peu de travaux ont portés sur l'incidence du développement des racines et hyphes mycéliens sur les microstructures du sol (CALLOT et al., 1983). Ce thème d'étude apparaît pourtant fondamental, puisque c'est à ce niveau que se déroule l'ensemble des phénomènes d'échanges entre le sol et la plante ou le champignon.

Dans cette publication, nous nous proposons de montrer que l'étude des interfaces Sol/Racine et Sol/Champignon, doit faire appel simultanément à l'ensemble des techniques micromorphologiques classiquement utilisées. Parmi celles-ci, la loupe binoculaire, outil ancien et actuellement trop peu employé en Science du Sol, s'avère en définitive être l'instrument de base de ce type d'étude.

METHODE D'ETUDE

Problèmes micromorphologiques spécifiques à l'étude des interfaces sol/racine et sol/champignon

Fondamentalement, l'intérêt d'une lame mince de sol réside dans le fait que le sol est un matériau opaque dont, quelque soit la dimension de l'échantillon étudié, seule la morphologie superficielle est accessible. La confection d'une lame mince permet donc en premier lieu d'avoir accès à l'intérieur des éléments constitutifs du sol.

Cette technique entraîne la perte d'une dimension et s'accompagne donc d'une perte d'information. Dans le cas d'une structure tridimensionnelle, cas le plus général en Science du Sol, l'étude d'un volume se ramène à l'étude d'une section. La perte d'information liée à la perte d'une dimension est largement compensée par l'intérêt des informations acquises par cette technique.

Dans le cas d'une structure bidimensionnelle, voire unidimensionnelle, l'acquisition même d'informations sur la ligne ou le point résultants devient problématique. Or, un hyphe ou une racine sont de telles structures linéaires approximativement cylindriques, dont la section la plus probable

1 - *Laboratoire de Science du Sol, I.N.R.A., Place Viala, 34060 Montpellier Cédex, FRANCE.*

sera une ellipse (Fig. 1). L'interface proprement dit entre le sol et un hyphe ou une racine est donc réduit à une ligne.

Si les modifications structurales résultant de l'activité de l'hyphe ou de la racine sont importantes, et alors le plus souvent continues tout au long de l'interface, l'observation de la section sur lame mince de sol suffit à mettre en évidence le phénomène.

En pratique, l'expérience nous a montré que :
(1) les modifications induites par l'activité mycélienne ou racinaire sont le plus souvent de faible intensité ;
(2) ces modifications sont fréquemment discontinues le long de l'hyphe ou de la racine ;
(3) la zone la plus instructive consiste généralement en la surface de contact de l'hyphe ou de la racine avec le matériau. Les structures de cette zone de contact se situent en–deçà du pouvoir de résolution des microscopes optiques utilisés en micromorphologie des sols. Ce dernier constat est une des raisons qui ont conduit FOSTER et al. (1983) à s'orienter plutôt vers les forts grossissements et la microscopie électronique à transmission, le problème résidant alors en l'obtention de coupes ultra–minces.

Par ailleurs, l'analyse quantitative d'une lame mince de sol n'a de sens que si l'on peut supposer que la surface observée, la lame mince, est représentative du volume initial : l'élément de sol. Ceci est vrai d'une manière générale si le milieu est, ou peut être, considéré comme isotrope. Aussi, un hyphe mycélien ou une racine, structures linéaires éminemment anisotropes, se prêtent fort mal aux études quantitatives à partir de sections.

Enfin, l'une des caractéristiques essentielles des êtres vivants, comparés à la phase minérale du sol, réside en leur courte durée de vie, jointe à un faible volume occupé. Pour être efficace, le chercheur doit donc d'une part se mettre en position d'explorer un important volume de sol, d'autre part d'identifier l'état du matériel végétal qu'il observe.

La loupe binoculaire : outil–pivot de l'étude des interfaces sol/racine et sol/champignon

Cet ensemble de contraintes spécifiques à l'étude des interfaces Sol/Racine et Sol/Hyphe nous a conduit à privilégier les outils d'observation tridimensionnelle : loupe binoculaire et microscope électronique à balayage. Au cours des années, la pratique de l'observation nous a amené à ériger la loupe binoculaire en pivot de notre travail. En effet, cet outil présente nombre d'avantages qui le rendent irremplaçable.

Il s'agit d'un instrument léger dont les optiques actuelles ne nécessitent d'autre éclairage que la lumière du jour. De plus, les échantillons ne demandent aucune préparation particulière. Ces deux propriétés font de cet instrument un excellent outil de terrain, parfaitement adapté à l'observation aux abords de la fosse pédologique.

Ainsi, la loupe binoculaire autorise de rapides observations de prospection, l'observation à l'état frais d'un grand nombre d'échantillons, la recherche et l'identification du ou des phénomènes intéressants, l'estimation de l'état du matériel végétal, enfin la sélection des échantillons les plus intéressants ou/et les mieux conservés.

Parmi ces différentes possibilités, offertes par la loupe binoculaire, insistons sur l'observation d'échantillons à l'état frais. En effet, nombre de microstructures sont dégradées par le dessèchement, même partiel, des échantillons. D'une manière générale, le dessèchement s'accompagne du développement de forces de tension superficielle qui perturbent l'organisation des structures les plus fines. Ce phénomène est bien connu dans le cas des argiles par exemple. De manière plus spécifique, le conditionnement des échantillons en vue de leur transport (ensachage, plâtrage, mise en boîte...), même durant un laps de temps relativement court, modifie les conditions écologiques du milieu. Il s'ensuit des modifications, qui peuvent être très rapides, de l'état du matériel végétal présent dans l'échantillon, ou/et des populations de microorganismes, en particulier fongiques.

Par ailleurs, le domaine de grossissement de la loupe binoculaire (x1 $<$ G $<$ x80) recouvre à la fois les domaines de l'"oeil nu", du microscope optique (x10 $<$ G $<$ x400) et du microscope électronique à balayage (x35 $<$ G $<$ x 20 000). Cette dernière propriété, sans doute la plus remarquable, confère à cet instrument un intérêt considérable, car elle permet de relier les observations effectuées tant à l'oeil nu, que sur lames, et sous MEB. Cette propriété nous a conduit à conjuguer l'ensemble des instruments d'observation précités, si besoin est sur le même échantillon de sol, pour bien intégrer les différentes structures dans les différentes échelles d'observation.

Les démarches d'observation utilisées

D'une manière générale, la confection d'une lame mince résulte du choix d'un plan, dont on ignore souvent l'environnement immédiat. La démarche utilisée par notre équipe permet, dans le cas d'une structure porale (revêtement, efflorescences, racines ou hyphes), de lever cette ambiguité. Elle consiste à débiter la motte consolidée en tranches épaisses, dont une des surfaces, polie, servira de plan de référence. La surface opposée est érodée progressivement et régulièrement observée sous loupe binoculaire (Fig.2).

Cette méthode, fort simple, s'est avérée particulièrement performante pour deux raisons : d'une part, la porosite apparaît alors dans toute son épaisseur, au–delà de la surface polie, et d'autre part,

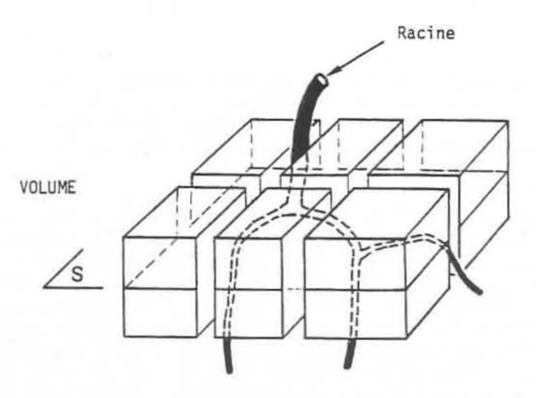
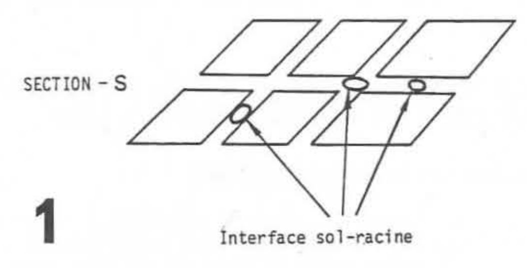


Fig. 1 – Section à l'interface sol–racine.



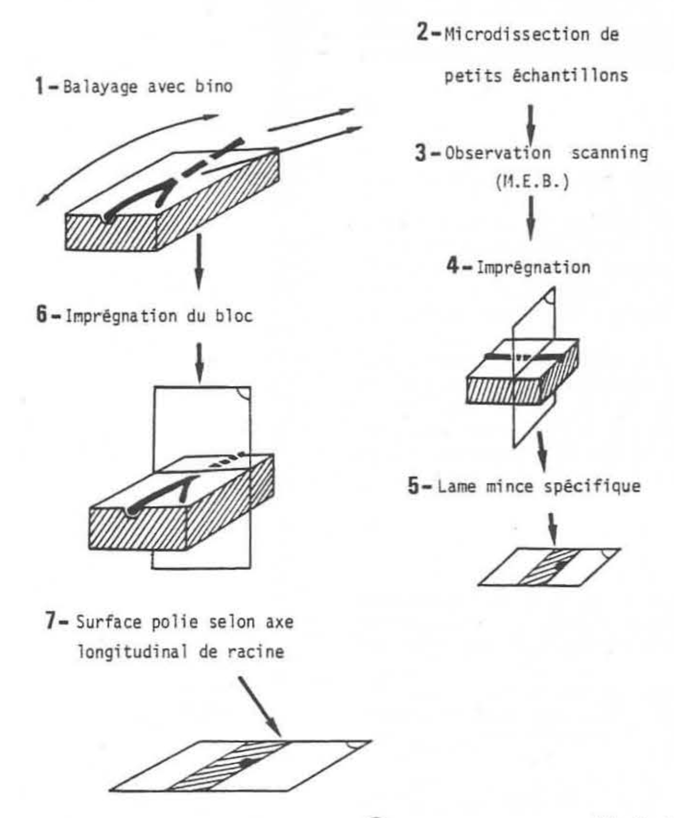


Fig. 2 – Méthodes d'analyse microstructurale tridimensionnelle à l'interface sol–racine.

il devient possible de positionner très exactement, voire d'orienter, le plan de la future lame mince par rapport aux structures intéressantes. Le volume dont provient la lame mince est alors connu, puisqu'exploré avant sa confection. Si on prend soin de photographier régulièrement l'échantillon au cours de son érosion, des documents objectifs illustrant la situation générale de la lame mince peuvent être produits.

Une autre démarche plus délicate mais tout aussi simple dans son principe, permet de produire des documents du même échantillon obtenus à la fois sous loupe binoculaire, sous MEB, sous microscope optique et à l'aide d'une sonde microanalytique. Elle concerne surtout les petits échantillons qui présentent un intérêt particulier et consiste à imprégner l'échantillon seulement après observation tridimensionnelle (loupe binoculaire et MEB) (CALLOT et al. 1984). Dans ce cas précis, il est commode de coller l'échantillon sur une lame de verre et de l'orienter par rapport à celle-ci, avant imprégnation. On dégage par la suite la lame de verre par quatre coups de scie. L'échantillon imprégné présente alors une surface moulée qui servira de plan de référence pour l'érosion progressive. Cette méthode d'observation intégrée (Fig. 2) permet ainsi d'identifier parfaitement la nature, voire l'origine d'une microstructure particulière resituée dans le contexte général d'une lame mince.

EXEMPLES D'INTERFACE SOL/RACINE ET SOL/CHAMPIGNON : INTERET DE L'OBSERVATION A LA LOUPE BINOCULAIRE

Importance des hyphes mycéliens dans un horizon A_2 de podzol

Les sols podzolizés sont des milieux où l'activité des systèmes mycéliens est particulièrement intense. La simple observation "in situ" sous loupe binoculaire d'un échantillon de sol extrait d'un horizon A_2 (podzol des Landes) met en évidence un réseau de filaments anastomosés qui enserrent les grains quartzeux. L'analyse microstructurale présentée sur la figure 3 a été réalisée au niveau d'un plan de rupture de l'horizon A_2, au contact de l'horizon Bh. Ces relations entre grains et filaments peuvent d'ailleurs aisément être mises en évidence "in situ", sur fosse. Cet horizon présente des chapelets de grains reliés par ces filaments.

Ce réseau de filaments est en réalité constitué par la thalle d'hyphes mycéliens qui colonisent la surface des grains. Dans cet exemple, les hyphes mycéliens, dont le diamètre n'est que de quelques microns, sont peu visibles sous microscope optique, quelque soit la lumière utilisée. Sous loupe binoculaire, ils sont aisément mis en évidence, bien qu'à un moindre grossissement. Ce phénomène a pour origine la propriété des hyphes de beaucoup de champignons, de fortement réfléchir la lumière, sur leurs parois constituées de chitine, cellulose, etc...

Mise en évidence de l'épiderme de racines calcifiées

Les structures rhizomorphes calcaires sont des vestiges calcifiés de racines herbacées que l'on rencontre dans nombre de sols calcaires (JAILLARD et CALLOT, 1986).

L'observation de ces rhizostructures sur lame mince de sol montre que le vestige racinaire calcifié n'est généralement pas en contact avec la matrice du sol (Fig. 4). L'observation sous loupe binoculaire met en évidence, sur quelques échantillons bien conservés, au contact Racine/Sol, l'existence d'une microstructure rappelant une mue de serpent, et réfléchissant fortement la lumière. L'observation au microscope électronique à balayage permet de l'interpréter comme une structure pariétale résiduelle.

La relecture des lames minces de sol en fluorescence naturelle par éclairage en lumière ultra-violette (SPECKLIN, 1979) permet effectivement de mettre en évidence sur nombre de rhizostructures bien conservées, la présence du squelette pariétal de ces racines calcifiées, en particulier des parois de l'épiderme. Ainsi, l'espace vide observé entre le vestige racinaire et le sol n'est pas un artéfact, mais est dû au fait que l'épiderme de ces racines n'est généralement pas concerné par le phénomène de calcification.

CONCLUSION

Ainsi, la loupe binoculaire constitue, au laboratoire, l'instrument de base de l'observation microstructurale, d'une part du fait de l'ordre de grandeur de son domaine de grossissement, intermédiaire entre l'oeil nu et le MEB ; d'autre part du fait de la possibilité de déterminer les sections représentatives du volume exploré.

Il s'agit aussi et surtout d'un instrument parfaitement adapté à la prospection micromorphologique "in situ", permettant une observation sans préparation des échantillons collectés. Cette observation en frais permet de s'affranchir en partie des contraintes et artéfacts liés au transport et à la préparation des échantillons au laboratoire.

La loupe binoculaire devrait être plus souvent utilisée dans les études morphologiques et pourrait constituer un outil de diagnostic agronomique fondé sur l'observation micromorphologique des interfaces Sol/Racine et Sol/Champignon.

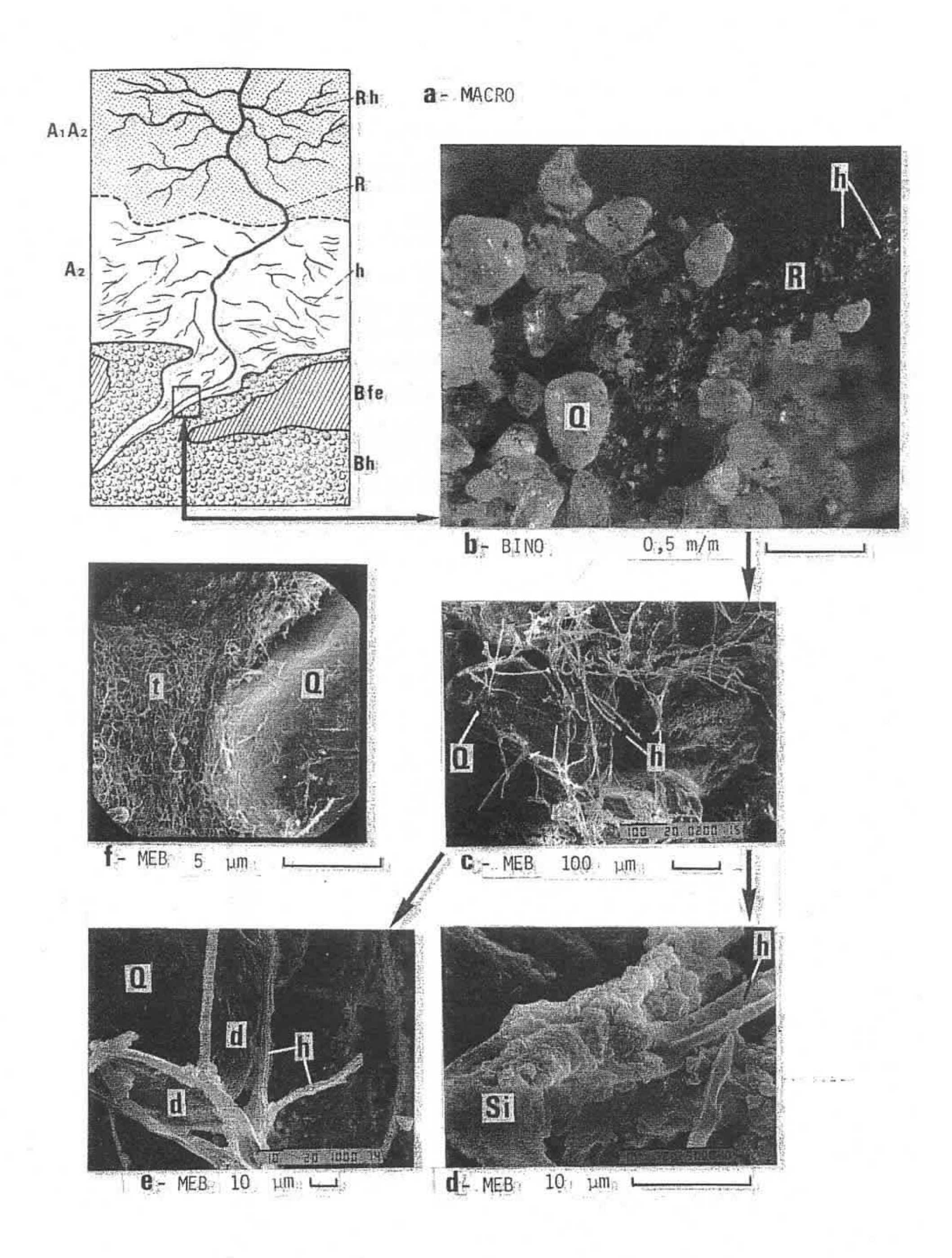


Fig. 3 – Mise en évidence des hyphes mycéliens dans un horizon A_2 de podzol.
a – Macrostructure du profil de sol : R – racine, h – hyphes mycéliens, Rh – racines mycorhizées.
b – Microstructure d'après loupe binoculaire d'une racine (R) avec hyphes mycéliens (h) colonisant les grains de quartz (Q).
c – Détail de la colonisation des hyphes (h) sur les grains de quartz (Q).
d – Détail de c avec précipitation de silice (Si) autour des hyphes (h).
e – Détail de c avec figures de dissolution (d) de grains de quartz (Q) selon les plans de clivage (h) hyphes mycéliens.
f – Hyphes mycéliens anastomosés (t) constituant le thalle autour d'un grain de quartz.

BIBLIOGRAPHIE

BOCQUIER G. et NALOVIC L., 1972 . Utilisation de la microscopie électronique en pédologie. Cahier ORSTOM, Série Pédologie, X, pp. 411–434.

BOUMA J., JONGERIUS A., BOERSMA O. , JAGER A. et SCHOONDERBEEK D., 1977 . The function of different types of macropores during satured flow though four swelling soil horizons. Soil. Sci. Soc. Am. J., 41, 945–950.

BREWER R., 1964 . Fabric and mineral analysis of soils. J. Wiley & Sons. New–York ,Sidney, 470 p.

BULLOCK P. et MURPHY C.P., 1980 . Towards the quantification of soil structure. J. of Microscopy, 120, 317–328.

CALLOT G., CHAMAYOU H., MAERTENS C. et SALSAC L., 1983 . Mieux comprendre les interactions Sol/Racine, Incidence sur la nutrition minérale, INRA 325 p.

CALLOT G., CHAMAYOU H., BULLOCK P. et MURPHY C.P., 1984 . Observation de concentrations argileuses dans les structures racinaires au cours des transformations pédologiques. C.R. Acad. Sci. Paris, t. 299, série II, 825–830.

FEDOROFF N., 1968 . Le développement des études micromorphologiques de sol en Europe Occidentale. Sci. du Sol., 4, 5–15.

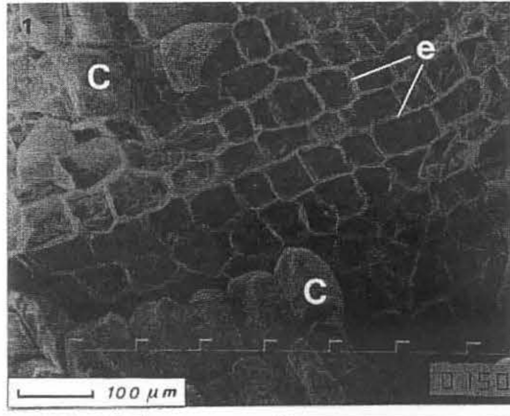
FOSTER R.C., ROVIRA A.D. et COCK T.W., 1983 . Ultrastructure of the Root Soil Interface. Am. Phytopathological Society. St Paul, 157 p.

JAILLARD B. et CALLOT G., 1986. Ségrégation minéralogique et processus de décarbonatation des sols sous l'action des racines. MICROMORPHOLOGIE DES SOLS– SOIL MICROMORPHOLOGY, Fedoroff N., Bresson L.M. et Courty M.A. (Edts),AFES, Plaisir, France. (Ce volume).

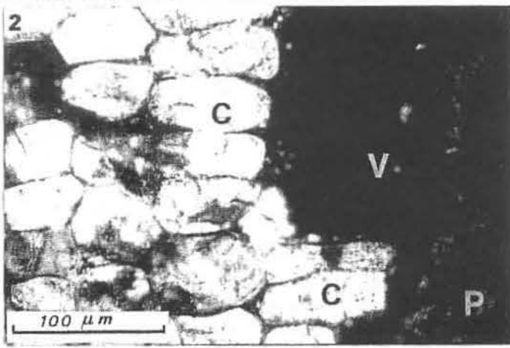
JONGERIUS A., SCHOONDERBEEK D., JAGER A. et KOWALINSKI S., 1972 . Electro–optical soil porosity investigation by means of quantimet B equipement, Geoderma, 7, 177–198.

SPECKLIN G., 1979 . Application de la microscopie de réflexion et de fluorescence à l'étude micromorphologique des sols. Thèse 3ème Cycle, Université de Montpellier, 143 p.

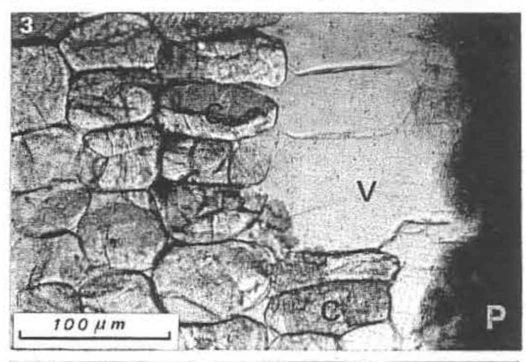
Fig. 4 – Conservation des parois de l'épiderme dans une racine calcitisée.



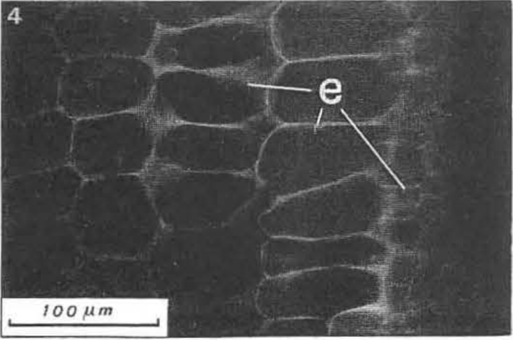
1 – Photo M.E.B., parois de l'épiderme (e) et cellules calcitisées (c).



2 – Coupe en lumière polarisée d'une lame mince montrant un vide (v) entre les cellules calcifiées (c) et le plasma du sol (P).



3 – Même échantillon que 2 en lumière naturelle.



4 – Même échantillon que 2, observé en lumière fluorescente montrant les parois cellulosiques (e) non visibles en lumière polarisée.